

**ВОСПРИИМЧИВОСТЬ МОЛЛЮСКОВ
VITHYNIA INFLATA ИЗ РАЗНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ
К ЗАРАЖЕНИЮ OPISTHORCHIS FELINEUS¹**

С. М. Герман, С. А. Бээр

Приводятся результаты экспериментальных инвазирования *O. felineus* специфического промежуточного хозяина — моллюсков *B. inflata* из разновосприимчивых популяций в пределах одного очага описторхоза. Показана невосприимчивость моллюсков из резистентных и гиперинвазированных популяций к заражению *O. felineus*.

С целью экспериментальной проверки гипотезы о существовании в природе популяций специфического промежуточного хозяина описторхиса, разновосприимчивых к трематодным инвазиям, из различных популяций в пределах Сумской и Черниговской обл. УССР (см. сообщ. 1) производили выборки моллюсков, которых затем доставляли в Москву и подвер-

¹ В экспериментах были использованы моллюски, которые на основании индекса, учитывающего отношение высоты завитка к высоте устья раковины (не менее 1.2), должны быть отнесены к *B. troscheli* (Старобогатов, 1977).

гали инвазированию *O. felineus*. Культуры яиц для заражения были предварительно получены из передней трети матки гельминтов, выделенных при вскрытии спонтанно инвазированных кошек из тех же очагов описторхоза и для сравнения — из ряда других очагов (в пределах Воронежской и Томской обл.).

Экспериментальному инвазированию предшествовало: определение исходной пораженности моллюсков в параллельной, большой по численности (200—350 экз.) выборке, методом компрессии гепатопанкреаса; отбраковка моллюсков, спонтанно инвазированных трематодами других семейств, путем многократных проверок на пораженность методом прижизненной диагностики; определение исходной жизнеспособности яиц (мирацидиев) описторхиса по методике, описанной нами ранее (Герман, Беэр, 1984а, 1984б).

Методика исследований. Моллюсков (2—3-летних с высотой раковины в среднем 9,2 мм) инвазировали в одни и те же календарные сроки (с 20 мая по 1 июня) с целью исключения пролонгирования партеногенетического цикла, индивидуально по разработанной методике.

Дозированное заражение *B. inflata* мирацидиями *O. felineus* представляет известные трудности, так как личинки гельминта в естественных условиях не выходят во внешнюю среду. Эта биологическая особенность гельминта не позволяет применять количественные методы заражения моллюсков, разработанные при экспериментальном моделировании шистосомозов (т. е. заражать моллюсков заранее подсчитанным числом мирацидиев). При экспериментальном инвазировании битиний мы применили способ, основанный на титровании взвеси инвазионного материала. При этом в микроаквариумы емкостью 2—2,5 мл (ячейки пластмассовых пластин для отбора фракций, используемые в иммунологических исследованиях) вносили инвазионный материал (яйца описторхиса), раститрованный таким образом, чтобы в каждом микроаквариуме число жизнеспособных яиц составляло 15—20 (жизнеспособность предварительно проверяли по методу, указанному выше). Доза яиц в пересчете на 1 моллюска была подобрана экспериментально и не приводила к преждевременной гибели моллюсков. Через 10—15 мин после внесения яиц в микроаквариумы помещали по одному активному моллюску. Экспозиция с инвазионным материалом составляла 3 ч. При многократных контрольных проверках было установлено, что за этот период успевают заразиться все восприимчивые к инвазии особи.

После инвазирования моллюсков содержали вначале группами, а спустя 1,5 мес. после заражения (т. е. примерно за 10—15 дней до предполагаемого выхода церкарий) — индивидуально в объемах воды 60—100 мл при температуре 18—20 °С. Каждого погибшего моллюска вскрывали и просматривали на наличие партенит. Особей, спонтанно инвазированных партенитами других видов трематод, из опытов исключали. Начиная приблизительно с 55-го дня после инвазирования, воду, в которой содержали моллюска, ежедневно профильтровывали через бумажный фильтр, на котором затем и подсчитывали под бинокуляром вышедших за сутки церкарий.

При экспериментальном инвазировании моллюсков, скормливая последним яйца паразита, важно убедиться в том, произошел ли выход мирацидиев в организме промежуточного хозяина. Блокировка такого выхода может явиться одним из критериев при оценке степени совместимости моллюсков и штаммов гельминта.

Выход мирацидиев в организме моллюсков определяли по методике, основанной на подсчете числа пустых скорлупок и нераскрывшихся яиц в фекальных сумках моллюсков спустя определенное время после скормливания им по 300—400 яиц. При этом после 3-часовой экспозиции с яйцами гельминта моллюсков пересаживали в свободные ячейки (микроаквариумы), предварительно ополоснув их в чашке Петри водой для удаления случайно налипших на раковину яиц. Моллюсков выдерживали в микроаквариумах с чистой проаэрированной водой 10—12 ч, после чего пастеровской пипеткой собирали фекальные сумки от каждого моллюска, поочередно помещали их в центрифужные пробирки и слегка растирали стеклянной палочкой в нескольких каплях воды. Содержимое переносили на предметное стекло, накрывали покровным и микроскопировали при увеличении 150—200 крат, подсчитывая пустые скорлупки яиц (из которых произошел выход мирацидиев) и целые нераскрывшиеся яйца (содержащие невышедших мирацидиев). Перед тем как скормливать яйца описторхисов моллюску, культуру яиц просматривали и подсчитывали исходное число пустых скорлупок, которое затем учитывали при подведении итогов эксперимента.

При оценке степени совместимости учитывали следующие основные критерии: смертность моллюсков через 1 и 2 мес (к моменту начала продукции церкарий); процент заразившихся моллюсков; процент особей, в которых партеногенетический цикл развития завершился формированием церкарий; продолжительность партеногенетического цикла; продолжительность

Т а б л и ц а 1
Результаты экспериментального инвазирования яйцами *Opisthorchis felineus* моллюсков *Bithynia inflata*
из резистентных и восприимчивых популяций

Место нахождения популяции	Исходная инвазированность моллюсков трематодами (в %)	Место, откуда был получен инвазионный материал	Число моллюсков в эксперименте	Смертность моллюсков через (в %)		Процент заразившихся особей	Процент особей, в которых цикл завершился выходом церкарий	ТПЦ/100
				1 мес.	2 мес.			
Черниговская обл. пос. Великое Устье, пойма р. Десны	1.0	Черниговская обл. пос. Великое Устье	100	11.0±3.1	19.0±3.9	2.0	0	0
		Воронежская обл.	36	19.0±6.6	36.0±8.1	2.7	0	0
		Томская обл.	36	11.0±5.2	25.0±7.3	0	0	0
Сумская обл. пос. Камень, пойма р. Сейм.	2.0	Сумская обл.	73	9.0±3.3	39.0±5.7	0	0	0
Сумская обл. г. Сумы, пойма р. Псёл	55.4	То же	56	15.0±4.8	30.0±6.2	90.0	28.0	15600
Сумская обл. пос. Камень, пойма р. Сейм.	91.5	» »	72	75.0±5.1	87.0±4.0	1.4	0	0

Т а б л и ц а 2
Выход мирацидиев описторхиса в организме моллюсков *Bithynia inflata* при их экспериментальном инвазировании

Местоположение популяции моллюсков, откуда произведена выборка	Исходная инвазированность трематодами (в %)	Число моллюсков в эксперименте	Место, откуда получен инвазионный материал	Исходная жизнеспособность яиц описторхиса (в %)	Сведения о выходе мирацидиев в организме моллюсков		
					число просмотренных яиц паразита в фекальных сумках моллюсков	выход мирацидиев (в %)	
						от общего числа яиц	от числа жизнеспособных яиц
Черниговская обл., пос. Великое Устье, пойма р. Десна	1.0	40	Черниговская обл.	51.4±1.8	4800	7.1±1.1 *	13.8±1.7
	37.4	20	То же	51.4±1.8	3100	44.3±2.7 **	86.7±5.1
Сумская обл. пос. Камень, пойма р. Сейм	91.4	20	» »	51.4±1.8	2900	19.6±2.9 *	38.2±5.2
Московская обл. г. Коломна, пойма р. Оки	30.2	20	» »	51.4±1.8	5900	49.0±2.5 **	95.2±3.0
Там же (реинвазия через 2 сут)	30.2	32	Томская обл.	54.5±2.2	13000	50.8±2.0 ***	92.8±3.6
	30.2	25	Черниговская обл.	51.4±1.8	2400	28.6±3.1 ***	55.6±6.1
	30.2	20	Томская обл.	54.5±2.2	6200	18.9±2.5 ***	34.7±4.5

П р и м е ч а н и е. Разница между показателями, отмеченными одной и двумя звездочками, а также двумя и тремя звездочками — достоверна при $P = 0.95$.

периода выхода церкарий; тотальная продукция церкарий в пересчете на 100 (ТПЦ/100). В качестве дополнительного критерия использовали количественные данные выхода мирацидиев из яиц в кишечнике моллюсков (на начальном этапе заражения).

Результаты и их обсуждение. Основные результаты экспериментальных инвазирования моллюсков представлены в табл. 1 и 2. Как можно видеть (табл. 1), заражение моллюсков из популяций, где исходная спонтанная инвазированность трематодами составляла 1—2 % (резистентные), при условии их заражения яйцами *O. felineus*, полученными как из того же очага описторхоза, так и из других очагов, не дало положительных результатов.

Даже у тех моллюсков (1 % от числа экспериментально инвазированных), у которых развивались редии, партеногенез не завершился формированием церкарий и ТПЦ/100 была равна нулю. При попытке заразить особей этих популяций большим числом мирацидиев (моллюскам скармливали по 200 жизнеспособных яиц), также были получены отрицательные результаты, причем не было отмечено увеличения смертности моллюсков в этой группе.

В качестве контроля инвазировали моллюсков из популяции, исходная спонтанная пораженность которой составляла 55.4 % (трематодами сем.: Plagiorchiidae, Lecithodendriidae, Syathocotylidae, Notocotilidae). В этом случае заражение произошло у 90 % особей и у 28 % цикл завершился выходом сформированных церкарий (ТПЦ/100=15 600).

Следует обратить внимание на попытку экспериментального заражения моллюсков из гиперинвазированной популяции, исходная спонтанная пораженность которой составляла 91.5 %. Здесь, как и в случаях с резистентными популяциями, заражения не произошло. Редии *O. felineus* были обнаружены в 1.5 % случаев и не было получено сформированных церкарий. Правда, в этом случае из-за невозможности полного отдифференцирования спонтанно инвазированных и интактных особей мы при объяснении явления должны учесть наряду с факторами клеточного иммунитета и конкуренцию между трематодами разных видов.

Так или иначе, полученные результаты экспериментов согласуются с нашими априорными представлениями о неучастии в эпизоотическом процессе при описторхозе в звене промежуточного хозяина резистентных и гиперинвазированных популяций (см. сообщ. 1).

Было отмечено, что у особей из резистентных популяций при их экспериментальном заражении происходит блокировка выхода мирацидиев (13.8 ± 1.6 % от числа жизнеспособных яиц, т. е. примерно в 7 раз меньше по сравнению с контролем: серии опытов № 2, 4, 5 табл. 2). Уменьшается процент выхода мирацидиев при прохождении яиц через кишечный тракт моллюсков из гиперинвазированных популяций (№ 3, табл. 2), а также при реинвазии моллюсков (таким же числом яиц) через 2 сут после первичного экспериментального заражения.

В трематодологии таких примеров мало и, напротив, есть данные, что на стадии мирацидия может происходить инвазирование как восприимчивых, так и резистентных моллюсков и даже неспецифических хозяев, а «распознавание» паразита осуществляется уже при формировании партенит (Loverde, 1978; Richards, 1977). Механизм такой блокировки выхода мирацидиев в кишечнике специфического хозяина не выяснен; можно только предполагать, что здесь играют роль не столько иммунные механизмы, сколько биохимические и физиологические особенности моллюсков.

Л и т е р а т у р а

- Герман С. М., Бээр С. А. Способ определения жизнеспособности яиц гельминтов. — Авт. свидет., 1 082 402, Бюл. изобр., 1984а, № 12, с. 12.
- Герман С. М., Бээр С. А. Метод определения жизнеспособности яиц описторхисов, основанный на выходе мирацидиев в экспериментальных условиях. — Мед. паразитол., 1984б, № 1, с. 51—60.
- Старобогатов Я. И. Класс брюхоногих моллюски Gastropoda. — В кн.: Определитель пресноводных беспозвоночных европейской части СССР. Л., Гидрометеоиздат, 1977, с. 152—174.
- Loverde P. T. Compatibility and noncompatibility between schistosome parasites and their molluscan hosts. — 4th Congr. Parasitol. Warszawa, 1978, Schort commun. Sec. C., p. 109—110.
- Richards C. S. Schistosoma mansoni susceptibility reversal with age in the snail host Biomphalaria glabrata. — Exp. Parasitol., 1977, vol. 42, N 1, p. 165—168.

SUSCEPTIBILITY OF MOLLUSCS BITHYNIA
INFLATA FROM DIFFERENT POPULATIONS TO EXPERIMENTAL
INFECTION WITH OPISTHORCHIS FELINEUS

S. M. German, S. A. Beer

S U M M A R Y

The paper reports the results of experimental infection of a specific intermediate host, molluscs *Bithinia inflata* from differently susceptible populations, with *Opisthorchis felineus* in one opisthorchis nidus. Non-susceptibility of molluscs from resistant and hyperinfected populations to *O. felineus* infection is shown.
